

Effect of sensory deprivation and locus coeruleus phasic electrical stimulation following the deflection of adjacent whisker on response properties of principal whisker related-neurons in layer IV of rat barrel cortex

Siahposht Khachaki A¹, Sheibani V^{2*}, Afarinesh Khaki MR², Sheikhkanloui Milan H¹, Shamsizadeh A³

1- Department of Physiology, Faculty of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, I. R. Iran

2- Neuroscience Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, I. R. Iran

3- Department of Physiology, Faculty of Medicine, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, I. R. Iran

Received December 29, 2009; Accepted February 20, 2010

Abstract:

Background: Barrel cortex of rodents is responsible for sensory information processing via facial whiskers. Locus coeruleus (LC), main source of cortical norepinephrine (NE), influences tactile sensory processing. In this study, the effect of phasic electrical stimulation of LC and sensory deprivation following the deflection of adjacent whisker on response properties of principal whisker related-neurons in layer IV of rat barrel cortex was investigated.

Materials and Methods: Response properties of 18 neurons in controls and 22 neurons in sensory deprivation group (P4) were evaluated using extracellular single unit recording following the controlled deflection of adjacent whisker or before a combined deflection of principal and adjacent whiskers. All whiskers on the left muzzle, except for D2, were plucked every other day for two mounts in P4 group. In both groups, LC was stimulated at 0, 50, 100, 200, 400 and 800 ms before adjacent whisker deflection and its effect on response latency, response magnitude and CTR (Condition Test Ratio) index was assessed.

Results: The mechanical deflection of adjacent whisker with no electrical stimulation of LC in P4 group caused significant decrease and increase in neuronal response magnitude and CTR index, respectively. Almost in all times of LC stimulation and following combinations of whisker deflection, LC electrical stimulation before adjacent whisker deflection in P4 group caused a decrease in neuronal response magnitude and an increase in CTR index.

Conclusion: LC electrical stimulation following sensory deprivation modulates neuronal response properties and changes the response patterns.

Keywords: Sensory deprivation, Whisker, Locus coeruleus nucleus, Norepinephrine, Rat

* Corresponding Author.

Email: vsheibani2@yahoo.com

Tel: 0098 341 226 4196

Fax: 0098 341 226 4198

Conflict of Interests: No

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences Spring 2010; Vol 14, No 1, Pages 1-11

اثر محرومیت حسی و تحریک الکتریکی فازیک هسته لوکوس سرولئوس به دنبال جا به جایی ویسکر کناری بر ویژگی‌های پاسخ نورو ن های لایه IV قشر بشکهای در موش صحرایی نر

علی سیاه پشت خاچکی^۱، وحید شبیانی^{۲*}، محمدرضا آفرینش خاکی^۳، حمید شیخکانلوی میلان^۴، علی شمسی زاده^۵

خلاصه

مقدمه: قشر بشکهای در جوندگان مسول دریافت و پردازش اطلاعات حسی از ویسکرهای صورت حیوان می‌باشد. هسته لوکوس سرولئوس (LC) منبع اصلی نورایی نفرین قشر مغز بوده و در پردازش اطلاعات حس تماس موثر است. در این مطالعه اثر تحریک الکتریکی فازیک LC و محرومیت حسی به دنبال جا به جایی ویسکر کناری بر خصوصیات پاسخی نورو ن های لایه چهار قشر بشکهای در موش صحرایی نر بررسی شد.

مواد و روش ها: خصوصیات پاسخ دهی ۱۸ نورو ن در گروه بدون محرومیت حسی (کنترل) و ۲۲ نورو ن در گروه محروم از حس (P4) با ثبت تک واحدی خارج سلولی به دنبال جا به جایی مکانیکی کنترل شده ویسکر کناری (حذف شده) و یا قبل از جا به جایی توام ویسکرهای اصلی (باقیمانده) و کناری، مورد ارزیابی قرار گرفت. در گروه محروم از حس (P4) از روز چهارم بعد از تولد تمام ویسکرهای سمت چپ صورت حیوان به جز ویسکر D2 یک روز در میان تا ۶۰ روزگی کنده می‌شدند. در هر دو گروه LC در زمان‌های مختلف قبل از جا به جایی کنترل شده ویسکر کناری تحریک الکتریکی می‌شد. **نتایج:** جا به جایی مکانیکی ویسکر کناری بدون تحریک الکتریکی LC در گروه (P4) نسبت به گروه کنترل سبب کاهش معنی‌داری در بزرگی پاسخ نورو ن ها و افزایش میزان شاخص CTR گردید. در گروه (P4) در مقایسه با گروه کنترل، تحریک الکتریکی LC قبل از جا به جایی ویسکر کناری سبب کاهش در بزرگی پاسخ نورو ن ها ($P < 0.05$)، افزایش شاخص CTR به دنبال جا به جایی توام ویسکرها و نیز افزایش زمان تاخیر پاسخ نورو ن ها گردید. **نتیجه گیری:** تحریک الکتریکی LC به دنبال محرومیت حسی سبب تعدیل خصوصیات پاسخ دهی نورو ن ها و الگوی پاسخ آنها می‌گردد.

واژگان کلیدی: محرومیت حسی، ویسکر، هسته لوکوس سرولئوس، نورایی نفرین، موش صحرایی

فصلنامه علمی - پژوهشی فیض، دوره چهاردهم، شماره ۱، بهار ۱۳۸۹، صفحات ۱۱-۱۰

مقدمه

ویسکرها را امکان پذیر می‌سازد [۱]. ویسکر اندام حسی حیاتی در جوندگان بوده و نقش اساسی در تشخیص اشیاء، درک عمق، شنا، کسب غذا و شکار، رفتار جنسی و خشم دارد [۱]. یکی از مهمترین ویژگی‌های قشر بشکهای شکل پذیری وابسته به تجربه نام دارد که به معنی تغییر پاسخ‌های ثبت شده از قشر به دنبال تغییر محیط و تغییر اطلاعات حسی (تغییر ورودی به قشر مغز) می‌باشد [۲]. به دنبال برداشتن یا حذف ویسکرها و ایجاد محرومیت حسی (Sensory Deprivation) در نتیجه حذف قسمتی از اطلاعات حسی ورودی، الگوی پاسخ بارل‌ها دچار تغییر خواهد شد [۳]. القاء شکل‌پذیری دارای دوره بحرانی می‌باشد. در قشر بشکهای دوره بحرانی برای القاء شکل‌پذیری در لایه چهار تا روز چهارم پس از تولد است و بر اساس بعضی مطالعات تا روز هفتم پس از تولد هم گزارش شده است [۵، ۴]. سیستم‌های نورومدولاتوری از جمله سیستم نورآدرنرژیک نقش تعدیلی در پردازش اطلاعات حسی در قشر دارند [۶] و در ایجاد پدیده شکل‌پذیری وابسته به تجربه نیز نقش به سزایی را ایفا می‌کنند [۷]. هسته LC به عنوان

قشر حسی-پیکری در موش صحرایی و سایر جوندگان یک نقشه سوماتوتوپیک دقیق به ازای هر ویسکر روی صورت حیوان دارد که یک واحد آناتومیکی مجزا به نام قشر بشکهای (Barrel Cortex) را نمایان می‌سازد؛ این قشر توصیف سازمان-دهی عملکردی دقیق و پردازش اطلاعات حسی مخاپره شده از

^۱ مربی، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

^۲ دانشیار، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

^۳ محقق، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

^۴ دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

^۵ استادیار، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

* نشانی نویسنده مسئول:

کرمان، چهار راه طهماسب آباد، مرکز تحقیقات علوم اعصاب

تلفن: ۰۳۴۱ ۲۲۶۴۱۹۶ دهنویس: ۰۳۴۱ ۲۲۶۴۱۹۸

پست الکترونیک: vsheibaniz@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۸/۹/۸ تاریخ پذیرش نهایی: ۸۸/۱۲/۱

ب) گروه شکل پذیری سیناپسی P4؛ در این گروه حیوانات در روز P4 (چهار روز بعد از تولد) به مدت ۶۰ روز، به صورت یک روز در میان تمام ویسکرها پوزه سمت چپ حیوان به جز ویسکر D2 با استفاده از یک موچین حذف می‌شود؛ بعد از شصت روزگی به مدت ۱۰-۷ روز به تمام ویسکرها اجازه رشد مجدد داده می‌شد و سرانجام هر دو گروه آزمایش در سن ۹۰-۷۰ روزگی (P70-P90) تحت آزمایشات ثبت خارج سلولی تک واحدی از نورون‌های لایه چهار قشر بشکه‌ای همراه با تحریک الکتریکی فازیک هسته LC قرار می‌گرفتند [۵]. جهت انجام ثبت خارج سلولی، حیوانات را ابتدا با یورتان با دوز ۲/۱ گرم در هر کیلوگرم بیهوش کرده، سپس حیوانات را داخل دستگاه استریوتاکس قرار داده و درجه حرارت بدنشان توسط یک پتوی حرارتی (۳۷±۰/۱ درجه سانتی‌گراد) کنترل می‌شد. ناحیه حجمه سمت راست به ابعاد ۱ تا ۴ میلی‌متر عقب‌تر از برگما و همچنین ۴ تا ۷ میلی‌متر در جانب خط وسط برداشته می‌شد تا سخت شامه کاملاً در معرض دید قرار بگیرد. با ارزیابی رفلکس‌های دم و پای عقب سطح هوشیاری مورد ارزیابی قرار می‌گرفت و در صورت سبک شدن بیهوشی، ده درصد دوز اولیه ماده بیهوشی تزریق می‌شد. برای ثبت خارج سلولی از یک میکروالکترود فلزی استفاده می‌شد. با استفاده از نقشه سوماتوتوپیک ویسکرها و گوش کردن به صدای فعالیت نورون‌ها، میکروالکترود در محل ویسکر D2 قرار می‌گرفت. سپس با استفاده از محلول گرم آگار ۳ درصد که در سالیان حل شده بود، سطح قشر پوشیده می‌شد. پس از آن میکروالکترود توسط یک میکرومانیپولاتور در لایه چهار قشر حسی مربوط به ویسکر D2 (ارتفاع ۸۰۰-۴۵۰ میکرومتر) قرار می‌گرفت. اسپایک‌های برداشته شده توسط میکروالکترود پس از ده هزار بار تقویت و پالایش (۱۰۰۰-۳۰۰ هرتز) توسط آمپلی‌فایر (DAM80) ساخت شرکت WPI (آمریکا) به ورودی دستگاه موج بیز (Window-Discriminator) منتقل می‌شد و همزمان از طریق یک رابط به دستگاه مدار تأخیری (Delay Line) با زمان تأخیر ۱۰ میلی‌ثانیه و به اسپیلوسکوپ حافظه‌دار منتقل می‌شد. اسپایک‌های نوروئی که پس از مدت زمان حدود ۱۵-۱۰ دقیقه پایدار باشند و نسبت سیگنال به نویز آن‌ها ۳ به ۱ باشد، توسط دستگاه موج‌بیز با تعریف یک پنجره ولتاژی از بقیه نورون‌ها جدا می‌شدند. دستگاه موج‌بیز به اِزاء هر اسپایکی که در محدوده بین پنجره ولتاژی قرار بگیرد یک پالس مربعی تولید می‌کند. دستگاه موج‌بیز طوری تنظیم شده بود که می‌توانست با فرکانس ۱۰ کیلوهرتز به شمارش اسپایک پردازد. از طرف دیگر همین پالس، اسپیلوسکوپ حافظه‌دار را فعال می‌کرد؛ بدین ترتیب دستگاه مدار

اصلی ترین منبع تولید نورایی نفرین مغز است که با مناطق مختلف سیستم عصبی از جمله نئوکورتکس، هیپوکامپ و تالاموس ارتباط دارد [۸]. نورایی نفرین در وضعیت رفتاری، حس توجه، سبکل خواب و بیداری و اعمال شناختی نقش دارد [۱۰،۹]. تحریک الکتریکی فازیک هسته LC به تنهایی (بدون محرومیت حسی) می‌تواند فعالیت نورون‌های لایه پنج قشر بشکه‌ای را تغییر دهد [۱۱]. همچنین، حذف نورایی نفرین مغز به دنبال محرومیت حسی ویژگی پاسخ‌های نورون‌های قشر بشکه‌ای را تغییر می‌دهد [۱۲]. برخی مطالعات نشان داده‌اند که تزریق ایونتوفورزيس نورایی نفرین مشابه تحریک LC دارای دو اثر متضاد تسهیلی و مهاري روی نورون‌های قشر حسی پیکری است [۱۳]. در مطالعه‌ای که توسط Levin و همکارانش انجام شد، موش‌های مورد آزمایش تحت محرومیت حسی (شکل پذیری وابسته به تجربه) قرار گرفتند و تغییرات اندازه بارل‌ها توسط مصرف ۲-دی اکسی گلوکز (۲-DG) اندازه‌گیری شد. در حالت عادی پس از ایجاد محرومیت حسی، منطقه‌ای از قشر بشکه‌ای مربوطه که مصرف گلوکز را نشان می‌داد، گسترش پیدا می‌کرد؛ در حالی که پس از تخریب LC این افزایش معنی‌دار نبود [۱۴]. نشان داده شده است که تحریک الکتریکی فازیک هسته LC (بدون محرومیت حسی)، باعث تغییر معنی‌داری در اندازه پاسخ نورون‌های لایه چهارم قشر بشکه‌ای در پاسخ به خم کردن ویسکر کناری نمی‌شود [۱۵]. با توجه به این که هسته LC اصلی ترین منبع نورایی نفرین در مغز می‌باشد و همچنین LC بر روی مراکز مهم مغز تاثیر گذار بوده و نقش مدولاتوری در پردازش اطلاعات حسی دارد و چون تاکنون اثر تحریک الکتریکی فازیک هسته LC به دنبال محرومیت حسی روی خصوصیات پاسخی نورون‌های قشر بشکه‌ای مطالعه نشده است، در مطالعه حاضر به بررسی این اثر به دنبال تحریک الکتریکی هسته LC پرداخته می‌شود.

مواد و روش‌ها

از ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار که در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و حرارت ۲۱±۱ درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شدند و نیز محدودیتی از نظر دسترسی به آب و غذا نداشتند، تعداد ۴۰ نورون ثبت گردید (به ازای هر موش یک نورون). موش‌ها به صورت تصادفی به ۲ گروه تقسیم شده بودند:

الف) گروه کنترل (بدون محرومیت حسی)؛ موش‌های دست نخورده بدون حذف ویسکر

به عنوان زمان شروع پاسخ در نظر گرفته می‌شد. برای محاسبه اثر تسهیلی یا مهارتی و یسکرهای اصلی و کناری بر یکدیگر از شاخص CTR (Condition Test Ratio) استفاده می‌شد که به صورت زیر محاسبه می‌گردید [۱۱،۵].

$$CTR = \frac{(5 - 25ms)PC}{(25 - 45ms)Aa + (5 - 25ms)Pa}$$

PC = بزرگی پاسخ و یسکر اصلی در حالت جفتی در ۲۵-۵ میلی-ثانیه بعد از جا به جایی؛

Pa = بزرگی پاسخ و یسکر اصلی به تنهایی در ۲۵-۵ میلی-ثانیه بعد از جا به جایی و

Aa = بزرگی پاسخ و یسکرکناری به تنهایی در ۴۵-۲۵ میلی-ثانیه بعد از جا به جایی

در صورتی که مقدار CTR از یک کمتر باشد، به عنوان اثر مهارتی و اگر از یک بیشتر باشد، به عنوان تسهیل در پاسخ نوروں در نظر گرفته می‌شد. از آزمون Repeated Measure ANOVA و جهت یافتن نقاط معنی‌دار در گروه‌های کنترل و P4، و همچنین از آزمون Paired t-test جهت یافتن نقاط معنی‌داری بین گروه‌های کنترل و P4 استفاده شد. در همه آزمون‌ها $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته می‌شد.

نتایج

به دنبال ایجاد محرومیت حسی به مدت ۶۰ روز و با استفاده از جا به جایی کنترل شده و یسکرها، اثر تحریک الکتریکی هسته LC روی بزرگی پاسخ نوروں‌های لایه چهار قشر بشکه‌ای مورد مطالعه و ارزیابی قرار گرفت. نتایج مطالعه حاضر نشان داد محرومیت حسی سبب می‌شود که بزرگی پاسخ نوروں‌ها به جا به جایی و یسکر کننده شده کاهش یابد؛ همچنین، زمان تأخیر شروع پاسخ نوروں‌ها در گروه شکل پذیری (P4) افزایش نشان داد و نیز میزان CTR (به عنوان شاخص مهارت‌جانی) در این گروه نسبت به گروه کنترل افزایش یافت. محرومیت حسی به همراه تحریک الکتریکی فاز یک هسته LC سبب کاهش بزرگی پاسخ نوروں‌ها شده و تأخیر نوروں‌ها را افزایش داد؛ میزان CTR نیز افزایش یافت (جدول شماره ۱).

اثر محرومیت حسی بر ویژگی پاسخ نوروں‌ها در پاسخ به جا به جایی کنترل شده و یسکر کناری

در شکل شماره ۳ بزرگی پاسخ نوروں‌ها در گروه P4 در مقایسه با گروه کنترل به صورت هیستوگرام تجمعی اطراف تحریک (Population Peri-Stimulus Time Histogram) [PPSTH] نشان داده شده است. با توجه به این شکل و شکل بعدی می‌توان دریافت که حذف و یسکرها سبب کاهش بزرگی

تأخیری و اسیلوسکوپ حافظه‌دار امکان مشاهده شکل اسپایک ایزوله شده را فراهم می‌ساخت [۵]. برای خم نمودن مکانیکی کنترل شده و یسکرها از دو بلندگو استفاده می‌شد. یک لوله شیشه-ای نازک با قطر داخلی ۰/۶۹ میلی‌متر، به مرکز هر بلندگو وصل شده و با اعمال ولتاژ مناسب به بلندگوها جا به جایی با مشخصات ذیل در آن‌ها ایجاد می‌شد: زمان بالا رفتن و یسکر ۵ میلی‌ثانیه، مدت زمان خم شدن ۲۰۰ میلی‌ثانیه، میزان خم شدن ۵۰۰ میکرومتر، دفعات خم شدن ۴۰ مرتبه با فرکانس ۰/۵ هرتز. و یسکرها در هنگام ثبت الکتروفیزیولوژی به فاصله ۱۰ میلی‌متر از سطح صورت کوتاه و نوک آن‌ها داخل لوله‌های شیشه‌ای قرار می‌گرفت. پس از اتمام آزمایش برای اطمینان از محل قرار گیری الکترودها در قشر بشکه‌ای D2 به وسیله جریان الکتریکی (۲۰ میکروآمپر ۱۵ ثانیه) لی‌ژن داده می‌شد؛ سپس (پس از آن که ثبت پارامترهای فیزیولوژیک انجام شد) با روش رنگ آمیزی سیتوکروم اکسیداز محل قرار گیری الکترود در لایه چهار قشر بشکه‌ای D2 تایید می‌گردید؛ در صورت نبودن الکترود در لایه مورد نظر، داده-ها از بخش آنالیز آماری حذف می‌شدند [۵] (شکل شماره ۱). برای تحریک هسته LC، در سمت راست خط وسط، روی جمجمه سوراخی با قطر ۲-۱ میلی‌متر در بالای هسته LC ایجاد شده و الکترود تحریکی نسبت به صفحه ایتراورال با زاویه ۱۸ درجه و از عقب در هسته LC قرار می‌گرفت. این الکترود تحریکی از دو الکترود نازک درهم تابیده از جنس فولاد زنگ‌زن که با لایه‌ای از تفلون پوشانده شده بود، تشکیل می‌شد (۰/۱۲۵ میلی‌متر، WPI). هسته LC به وسیله یک دستگاه استیمولاتور (WPI, A365) با ۵ پالس ۰/۲ میلی‌ثانیه‌ای با شدت ۳۰۰-۱۰۰ میکروآمپر و فرکانس ۱۰۰ هرتز تحریک می‌شد. بعد از اتمام آزمایشات با جریان مستقیم DC (۳۰ میکروآمپر، ۲۰ ثانیه) هسته LC لی‌ژن داده می‌شد؛ سپس با تهیه برش‌هایی به ضخامت ۸۰ میکرون و با استفاده رنگ آمیزی نیسل محل قرارگیری الکترود تحریکی در هسته LC مورد تایید قرار می‌گرفت [۱۶،۱۱] (شکل شماره ۲). با استفاده از نرم افزار مربوطه بزرگی پاسخ به جا به جایی و یسکر (Response Magnitude) به وسیله شمارش تعداد اسپایک‌ها به ازاء هر تحریک (Spike/Stimulus) ۳۵-۵ میلی‌ثانیه بعد از شروع جا به جایی و یسکرها مورد محاسبه قرار می‌گرفت. برای محاسبه زمان تأخیر شروع پاسخ نوروں‌ها به جا به جایی و یسکر مربوطه، از هیستوگرام تأخیری (Latency histogram) استفاده می‌شد بدین ترتیب که زمانی بعد از تحریک (اندازه bin برابر با یک میلی‌ثانیه) که بزرگی پاسخ از میانگین فعالیت خود به خودی به اندازه دو انحراف معیار (standard deviation) بزرگتر باشد،

پاسخ نورونها در پاسخ به جا به جایی ویسکر کناری (حذف شده) شده است.

از طرف دیگر، آنالیز نتایج نشان می‌دهد که محرومیت حسی در گروه P4 در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی‌دار در زمان تاخیر شروع پاسخ نورونها ایجاد نمی‌کند (شکل شماره ۵). همچنین، محرومیت حسی سبب افزایش معنی‌دار در میزان CTR در گروه P4 می‌شود ($P=0/049$) (شکل شماره ۶).

مقایسه درون گروهی و بین گروهی اثر تحریک الکتریکی هسته LC متعاقب محرومیت حسی بر ویژگی پاسخ نورون‌های لایه چهار قشر بشکه‌ای به جا به جایی کنترل شده ویسکر کناری

نتایج آزمون آماری (آنالیز واریانس با اندازه گیری مکرر) بیان می‌دارد که در هر دو گروه کنترل و P4 به دنبال تحریک الکتریکی هسته LC در زمان‌های مختلف، نسبت به حالت بدون تحریک، در پاسخ به جا به جایی ویسکر کناری بزرگی پاسخ نورونها تغییر نمی‌کند ($P=0/26$; $F_{(3,740,29,921)}=1.376$). شکل شماره ۷ نیز بیان کننده این موضوع است. در زمان‌های ۸۰۰- میلی ثانیه بعد از تحریک الکتریکی هسته LC بزرگی پاسخ نورون-ها در گروه P4 نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری مشاهده می‌شود ($P=0/02$). همان‌طور که در شکل شماره ۸ نشان داده شده است، مقایسه درون گروهی زمان تاخیر شروع پاسخ نورونها در گروه کنترل و P4 به جا به جایی ویسکر کناری نشان می‌دهد که در گروه کنترل تحریک الکتریکی هسته LC باعث افزایش زمان تاخیر شروع پاسخ نورونها در پاسخ به جا به جایی ویسکر کناری در بازه زمانی ۸۰۰- میلی ثانیه می‌شود و این افزایش در زمان ۱۰۰ میلی ثانیه معنی‌دار است ($P=0/03$). این در حالی است که در گروه P4 تحریک الکتریکی هسته سبب افزایش زمان تاخیر شروع پاسخ نورونها شده اما هیچ گونه اختلاف معنی‌داری مشاهده نمی‌شود ($P=0/07$). همچنین، مقایسه زمان تاخیر شروع پاسخ نورون-ها در هر دو گروه نشان داد که تحریک الکتریکی هسته LC به دنبال ایجاد محرومیت حسی، سبب افزایش زمان تاخیر شروع پاسخ نورونها در پاسخ به جا به جایی ویسکر کناری می‌شود که این افزایش در زمان‌های ۸۰۰ و ۱۰۰ میلی ثانیه بعد از تحریک LC معنی‌دار شده است ($P=0/02$). مقایسه درون گروهی CTR در گروه کنترل و P4 نیز نشان می‌دهد که در گروه کنترل تحریک الکتریکی هسته LC سبب افزایش در میزان CTR در زمان ۵۰ میلی ثانیه بعد از شروع تحریک LC می‌شود ($P=0/04$; $F_{(3,315,134,989)}=2.595$; شکل شماره ۹). بر عکس، در گروه P4 تحریک الکتریکی هسته LC سبب تغییر معنی‌داری در میزان CTR در زمان بعد از شروع تحریک نشده است ($P=0/37$). همچنین، مقایسه میزان CTR در گروه P4 نسبت به

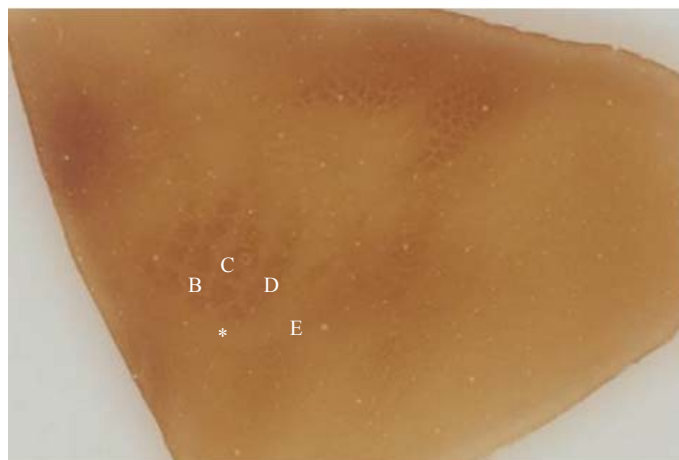
جدول شماره ۱- خصوصیات پاسخ دهی نورونها در دو گروه آزمون در زمان‌های مختلف قبل (Without) و بعد از تحریک LC داده‌ها به صورت $\bar{X} \pm SEM$ گزارش شده است

شاخص	مدت زمان بعد از تحریک هسته LC (میلی ثانیه)				قبل از تحریک هسته LC	
	۸۰۰	۴۰۰	۲۰۰	۱۰۰	۵۰	۰
بزرگی پاسخ نورونها	$0/748 \pm 0/070$	$1/331 \pm 0/210$	$0/793 \pm 0/077$	$0/88 \pm 0/167$	$0/84 \pm 0/138$	$0/717 \pm 0/056$
زمان تاخیر	$14/4 \pm 1/194$	$11/83 \pm 0/434$	$12/3 \pm 0/206$	$12/05 \pm 0/820$	$12/05 \pm 0/820$	$12/05 \pm 0/820$
شاخص CTR	$0/705 \pm 0/07$	$0/433 \pm 0/129$	$0/595 \pm 0/057$	$0/337 \pm 0/048$	$0/301 \pm 0/058$	$0/765 \pm 0/072$

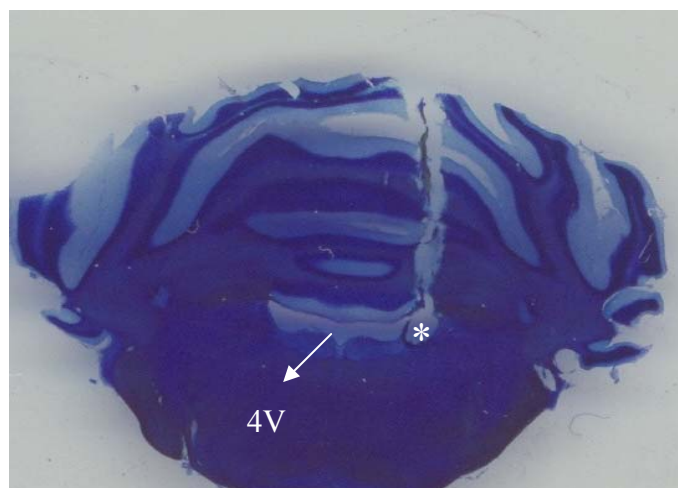
همچنین در شکل شماره ۴ نشان داده شده است که حذف ویسکرها سبب می‌شود تا بزرگی پاسخ نورون‌های مربوط به ویسکر کناری نسبت به گروه کنترل کاهش یابد. نتایج آزمون آماری نیز موید این مطلب است ($P=0/003$; $F_{(13,993,317,178)}=1.839$).

زمان های صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی ثانیه شده است
($P=0.03$).

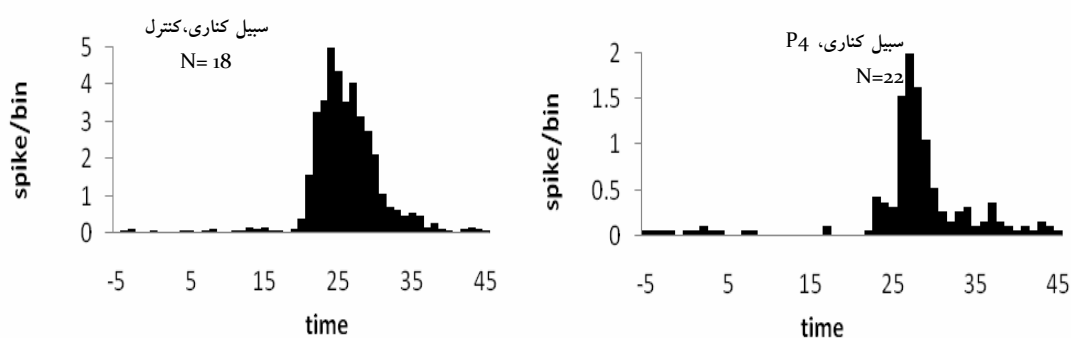
گروه کنترل نشان داد که تحریک الکتریکی هسته LC در گروه P4 نسبت به گروه کنترل سبب افزایش معنی دار در میزان CTR در



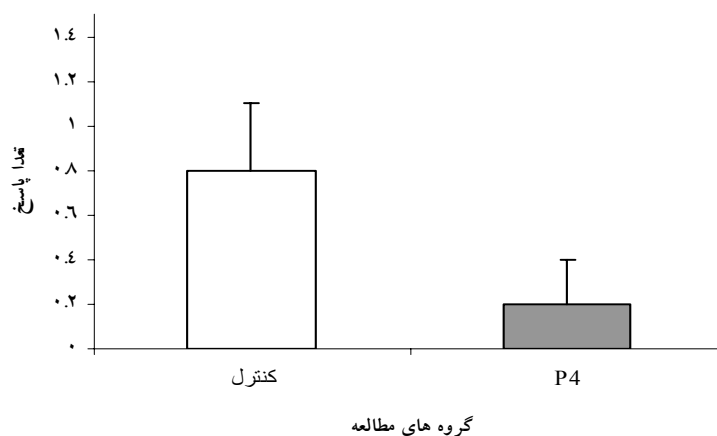
شکل شماره ۱ - برش طولی (Tangential) از ناحیه قشر بشکهای سمت راست در موش صحرایی. این برش با روش سیتوکروم اکسیداز رنگ آمیزی شده است. ستاره محل قرارگیری الکترود در بارل D2 را نشان می دهد.



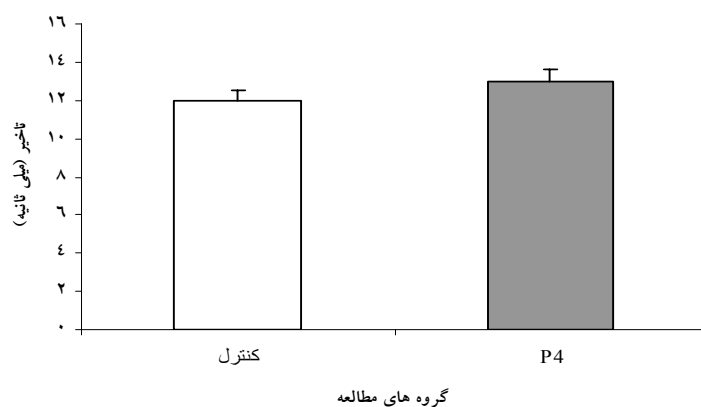
شکل شماره ۲ - ستاره محل الکترود تحریکی جهت تحریک الکتریکی هسته LC را نشان می دهد. (رنگ آمیزی نیسل)، 4V: بطن چهارم



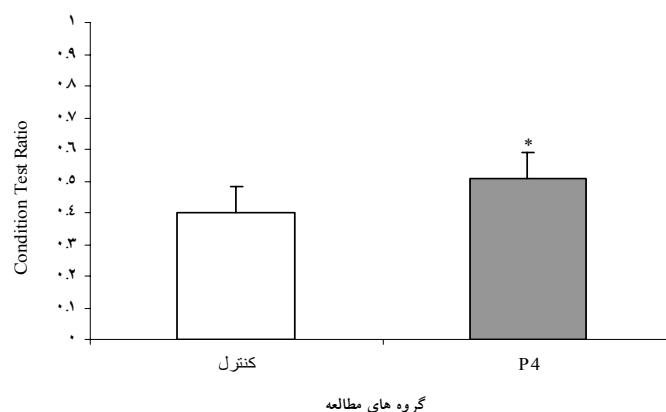
شکل شماره ۳ - مقایسه هیستوگرام تجمعی پاسخ نورونها بعد از تحریک ویسکر کناری در گروه های کنترل و گروه P4. هر هیستوگرام تجمعی نشان دهنده پاسخ نورونها به ۴۰ بار تحریک ویسکر کناری است. محور افقی نشان دهنده زمان برحسب میلی ثانیه است و زمان صفر، نشان گر لحظه شروع تحریک ویسکر است. محور عمودی در هر دو نمودار مشابه و بر حسب Spike/Bin است



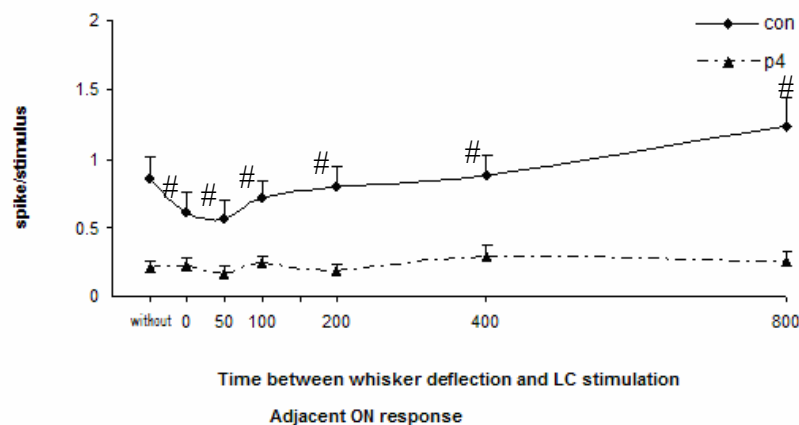
شکل شماره ۴- اثر محرومیت حسی بر روی بزرگی پاسخ نورون های لایه چهار قشر بشکهای مغز در پاسخ به جا به جایی ویسکر کناری؛ اختلاف معنی دار در گروه P4 نسبت به گروه کنترل ($P < 0.001$) (**)



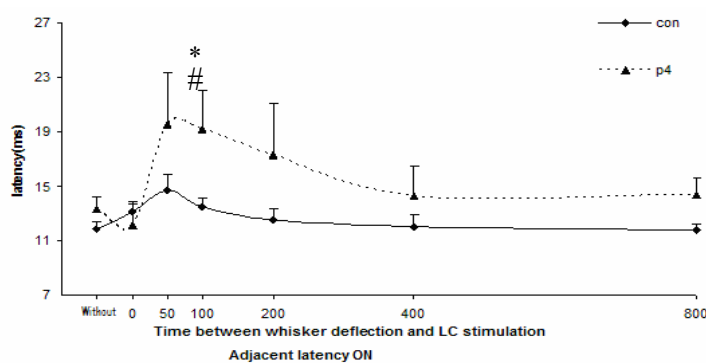
شکل شماره ۵- اثر محرومیت حسی بر زمان تاخیر شروع پاسخ نورون ها در پاسخ به جا به جایی ویسکر کناری؛ * اختلاف معنی دار در زمان تاخیر شروع پاسخ نورون ها بین گروه کنترل با گروه P4 در پاسخ به جا به جایی ویسکر کناری ($P < 0.05$)



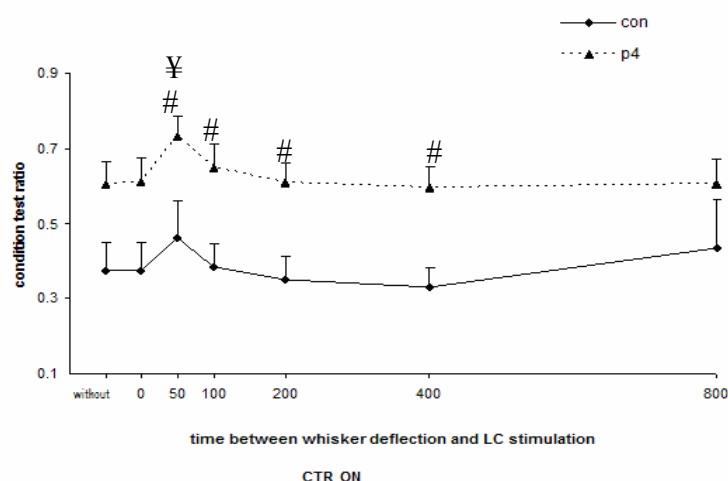
شکل شماره ۶- اثر محرومیت حسی بر میزان CTR نورون ها؛ * اختلاف معنی دار در زمان تاخیر شروع پاسخ نورون ها بین گروه کنترل با گروه P4 در پاسخ به جا به جایی ویسکر کناری ($P < 0.05$)



شکل شماره ۷- مقایسه درون گروهی و بین گروهی اثر تحریک الکتریکی هسته LC متعاقب محرومیت حسی بر بزرگی پاسخ نوروهای لایه چهار قشر بشکهای به جا به جایی ویسکر کناری در گروه‌های مطالعه؛ # اختلاف معنی‌دار گروه P4 نسبت به گروه کنترل



شکل شماره ۸- مقایسه درون گروهی و بین گروهی اثر تحریک الکتریکی هسته LC متعاقب محرومیت حسی بر زمان تاخیر شروع پاسخ نوروهای لایه چهار قشر بشکهای به جا به جایی ویسکر کناری؛ # اختلاف معنی‌دار زمان تاخیر شروع پاسخ نوروها در گروه P4 نسبت به گروه کنترل در پاسخ به جا به جایی ویسکر کناری در زمان‌های ۱۰۰ و ۸۰۰ میلی ثانیه ($P < 0.05$), * اختلاف معنی‌دار زمان تاخیر شروع پاسخ نوروها در گروه کنترل در پاسخ به جا به جایی ویسکر کناری در زمان ۱۰۰ میلی ثانیه



شکل شماره ۹- مقایسه درون گروهی و بین گروهی اثر تحریک الکتریکی هسته LC متعاقب محرومیت حسی بر CTR نوروهای لایه چهار قشر بشکهای به جا به جایی توام ویسکر اصلی و کناری در هر دو گروه مطالعه؛ # اختلاف معنی‌دار در گروه P4 در زمان‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ میلی ثانیه نسبت به گروه کنترل، ¥ اختلاف در درون گروه P4 نسبت به حالت بدون تحریک LC ($P < 0.05$)

بحث

در این مطالعه اثر تحریک الکتریکی هسته لوکوس سرولوس بر خصوصیات پاسخی نورون‌های لایه چهار قشر بشکه-ای به دنبال ایجاد شکل پذیری وابسته به تجربه مورد بررسی قرار گرفت. محرومیت حسی سبب شد تا بزرگی پاسخ نورون‌ها به جا به جایی ویسکر کننده شده، کاهش یابد؛ همچنین، زمان تاخیر شروع پاسخ نورون‌ها در گروه شکل پذیری (P4) افزایش نشان داد و نیز میزان CTR (به عنوان شاخص مهار جانبی) در این گروه نسبت به گروه کنترل افزایش یافت. محرومیت حسی به همراه تحریک الکتریکی فاز یک هسته LC سبب کاهش بزرگی پاسخ نورون‌ها شده و تاخیر نورون‌ها را افزایش داد؛ میزان CTR نیز افزایش یافت. این یافته‌ها نشان می‌دهد که LC در تعدیل خصوصیات پاسخی نورون‌ها و الگوی پاسخ آنها موثر می‌باشد. Fox نشان داده است که حذف ویسکرها (محرومیت حسی) سبب تضعیف بزرگی پاسخ نورون‌های لایه چهار قشر بشکه‌ای می‌شود؛ که البته این تضعیف بیشتر محدود به هفته اول بعد از تولد می‌باشد [۳]. Levin و همکارانش نشان دادند که پس از القاء شدن شکل پذیری و باقی گذاشتن یک ویسکر میزان مصرف گلوکز در بارل حذف شده به عنوان شاخص فعالیت نورون‌ها کاهش می‌یابد [۱۴]. Shamsizadeh و همکارانش نیز بیان می‌دارند حذف ویسکرها در روزهای صفر، پنجم و هشتم بعد از تولد سبب کاهش بزرگی پاسخ نورون‌های لایه چهار قشر بشکه‌ای در جا به جایی ویسکر کناری و افزایش میزان CTR می‌شود [۵]. در مطالعه فعلی نیز مشخص شده که حذف ویسکرها باعث کاهش در بزرگی پاسخ نورون‌ها لایه چهار قشر بشکه‌ای و شاخص CTR می‌شود. مکانیسم دقیق این کاهش بزرگی پاسخ نورون‌ها به دنبال ایجاد شکل پذیری مشخص نیست. یکی از مکانیسم‌های مطرح شده، تضعیف مسیرهای آوران حسی در اثر حذف ویسکرها می‌باشد [۱۸، ۱۷]. به نظر می‌رسد که مهار پاسخ به ویسکرها حذف شده منشأ قشری داشته و مدارهای موضعی در آن نقش داشته باشند [۲۰، ۱۹]. از یک طرف بیشتر مدارهای مهار در قشر بشکه‌ای از طریق گیرنده‌های گابا و ساطت می‌شوند؛ به طوری که مهار گیرنده‌های GABA باعث افزایش میدان دریافتی تحریکی در قشر بشکه‌ای می‌شود و از طرفی دیگر استفاده از آگونیست‌های گابا از کاهش بزرگی پاسخ نورون‌ها به ویسکر حذف شده جلوگیری می‌کند [۲۰]؛ بنابراین، مکانیسم درگیر در شکل پذیری، در برهمکنش بین مدارهای گابا و مدارهای مربوط به مهار جانبی وجود دارد [۱۹]. در مطالعه‌ای که توسط Motaghi و همکارانش انجام شد، مشخص گردید که تحریک الکتریکی فازیک هسته LC به تنهایی

(بدون محرومیت حسی) سبب کاهش زمان تاخیر شروع پاسخ نورون‌ها، افزایش بزرگی پاسخ نورون‌ها و کاهش میزان CTR در نورون‌های لایه پنج قشر بشکه‌ای می‌شود [۱۱]. همچنین، شبانی و همکاران نشان دادند که حذف نورایی نفرین مغز به دنبال القاء شکل پذیری مانع از تغییرات در خصوصیات پاسخی نورون‌های قشر بشکه‌ای می‌شود [۱۲]. در مطالعه فعلی هم مشخص شد که تحریک الکتریکی هسته LC (منبع نورایی نفرین مغز) به دنبال محرومیت حسی سبب کاهش بزرگی پاسخ نورون‌ها، افزایش زمان تاخیر شروع پاسخ نورون‌ها و افزایش میزان CTR نورون‌های لایه چهار قشر بشکه‌ای می‌شود. در مطالعات مختلف نشان داده شده است که تحریک LC تأثیرات متفاوتی را بر لایه‌های قشر اعمال می‌کنند؛ این اثرات می‌توانند ناشی از ارتباط فیبرهای آورنده متفاوت این هسته به لایه‌های مختلف و یا در اثر انواع گوناگون گیرنده‌های نورآدرنژیک باشد [۲۰، ۱۷]. Sato و همکاران نشان دادند که تحریک فاریک LC باعث تسهیل و تضعیف پاسخ نورون‌ها در قشر بینایی گربه می‌شود. اثرات تضعیفی در لایه‌های دو، سه و چهار غالب بوده، در صورتی که در لایه پنج و شش اثرات تسهیلی مشاهده می‌شود [۲۰]. با این همه، برخی مطالعات نشان داده‌اند که تحریک الکتریکی فازیک هسته LC (بدون محرومیت حسی)، باعث تغییر معنی‌داری در پاسخ نورون‌های لایه چهارم قشر بشکه‌ای در پاسخ به خم کردن ویسکر کناری نمی‌شود [۱۵]. در مطالعه دیگری که توسط Lecas ارائه گردید، مشخص شد که تحریک فازیک هسته LC سبب تسهیل بزرگی پاسخ نورون‌ها در قشر حس پیکری مربوط به پای جلویی موش صحرایی می‌گردد؛ به علاوه زمان تاخیر پاسخ نورون‌ها به تحریک پای جلویی کاهش می‌یابد [۲۱]. در مطالعه ما نیز در گروه مربوط به محرومیت حسی نسبت به گروه کنترل در بعضی از زمان‌ها، تحریک الکتریکی هسته LC سبب کاهش

لایه چهار قشر بشکه‌ای شده است و زمان تاخیر شروع پاسخ نورون‌ها کاهش یافته است؛ این مشاهدات احتمالاً ناشی از غیرفعال شدن گیرنده‌های NE در قشر مغز در اثر حذف ویسکرها و تداخل اثر آن با مسیرهای تالاموکورتیکال است و البته این فرض نیاز به تحقیق بیشتری دارد. تزریق ایونتوفورزس نیز، مشابه تحریک الکتریکی هسته LC، دارای دو اثر متضاد تحریکی و مهار می‌باشد [۲۲]؛ علت این تفاوت پاسخ ممکن است در فعال شدن گیرنده‌های متفاوت آدرنژیک باشد؛ به این صورت که فعالیت α -رسپتورها منجر به تسهیل در پاسخ می‌شود و فعال شدن β -رسپتورها سبب پاسخ مهار می‌گردد [۲۳]. نتایج عده‌ای از مطالعات نیز نشان می‌دهند که رسپتور گابا در مهار جانبی نقش

نتیجه گیری

در مجموع مطالعه ما نشان داد که تحریک الکتریکی هسته لوکوس سرولئوس به دنبال محرومیت حسی سبب ایجاد اثرات تنظیمی روی خصوصیات پاسخی نورون‌های لایه چهار قشر بشکهای در جا به جایی ویسکر کناری می‌شود.

تشکر و قدردانی

یافته این پژوهش با حمایت مالی مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان صورت پذیرفته است؛ از همکاری این مرکز نهایت تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

دارد [۱۹]. بین گابا و نوراپی نفرین اثر متقابل در قشر وجود دارد [۲۴] و نوراپی نفرین با استفاده از α -رسپتورها مهار پاسخ ایجاد شده توسط گابا را کاهش می‌دهد [۲۵، ۱۳]. در مطالعه ما به دنبال تحریک الکتریکی هسته LC بزرگی پاسخ نورون‌ها کاهش یافته و میزان CTR افزایش یافته است؛ بنابراین، به نظر می‌رسد که بیشتر مدارهای تحریکی تحت تاثیر قرار گرفته‌اند. با توجه به ارتباط هسته LC با نواحی و ساختارهای زیر قشر مثل تالاموس و هسته تری ژمینال، این احتمال وجود دارد که این نواحی روی اثرات تحریک هسته LC موثر بوده و البته این فرض نیاز به مطالعات بیشتری در آینده دارد.

References:

- [1] Fox K. Anatomical pathways and molecular mechanisms for plasticity in the barrel cortex. *Neuroscience* 2002; 111(4): 799-814.
- [2] Fox K. Experience-dependent plasticity mechanisms for neural rehabilitation in somatosensory cortex. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2009 12; 364(1515): 369-81.
- [3] Fox K, Glazewski S, Chen CM, Silva A, Li X. Mechanisms underlying experience-dependent potentiation and depression of vibrissae responses in barrel cortex. *J Physiol Paris* 1996; 90(3-4): 263-9.
- [4] Glazewski S. Experience-dependent changes in vibrissae evoked responses in the rodent barrel cortex. *Acta Neurobiol Exp* 1998; 58(4): 309-20.
- [5] Shamsizadeh A, Sheibani V, Arabzadeh S, Afarinesh MR, Farazifard R, Noorbakhsh SM, et al. Single whisker experience started on postnatal days 0, 5 or 8 changes temporal characteristics of response integration in layers IV and V of rat barrel cortex neurons. *Brain Res Bull* 2007; 74(1-3): 29-36.
- [6] Hurley LM, Devilbiss DM, Waterhouse BD. A matter of focus: monoaminergic modulation of stimulus coding in mammalian sensory networks. *Curr Opin Neurobiol* 2004; 14(4): 488-95.
- [7] Manunta Y, Edeline JM. Noradrenergic induction of selective plasticity in the frequency tuning of auditory cortex neurons. *J Neurophysiol* 2004; 92(3): 1445-63.
- [8] Foote SL, Bloom FE, Aston-Jones G. Nucleus locus ceruleus: new evidence of anatomical and physiological specificity. *Physiol Rev* 1983; 63(3): 844-914.
- [9] Waite PME, tracy DJ. Trigeminal sensory system. In: Paxinos G, editor. The rat nervous system. 2nd ed. San Diego: Academic Press; 1995. p. 705-24.
- [10] Loughlin SE, Foote SL, Fallon JH. Locus coeruleus projections to cortex: topography, morphology and collateralization. *Brain Res Bull* 1982; 9(1-6): 287-94.
- [11] Motaghi S, Sheibani V, Farazifard R, Joneidi H. Electrical stimulation of locus coeruleus strengthens the surround inhibition in layer V barrel cortex in rat. *Neurosci Lett* 2006; 401(3): 280-4.
- [12] Sheibani V, Arabzadeh S, Afarineshkhaki MR, Shamsizadeh A, Aminizadeh H, Azizolahi S. Effect of Norepinephrine depletion on induction of experience dependent plasticity in male rat barrel cortex. *The Journal Physiology and Pharmacology* 2008; 11(4): 244-51. [in Persian]
- [13] Waterhouse BD, Moises HC, Woodward DJ. Alpha-receptor-mediated facilitation of somatosensory cortical neuronal responses to excitatory synaptic inputs and iontophoretically applied acetylcholine. *Neuropharmacology* 1981; 20(10): 907-20.
- [14] Levin BE, Craik RL, Hand PJ. The role of norepinephrine in adult rat somatosensory (Sml) cortical metabolism and plasticity. *Brain Res* 1988; 443(1-2): 261-71.
- [15] Behzadi J, Sheibani V, Esteky H, Ganji F. Effect of locus ceruleus phasic electrical stimulation on responses of barrel cortical cells to controlled mechanical displacement in rats. *Journal Physiology and Pharmacology* 2002; 6(1): 27-37. [in Persian]
- [16] Watson C, paxinos G. The rat brain in stereotaxic coordinates. 2nd ed. Sydney; Orlando: Academic Press; 1986.
- [17] Shimegi S, Akasaki T, Ichikawa T, Sato H. Physiological and anatomical organization of multiwhisker response interactions in the barrel cortex of rats. *J Neurosci* 2000; 20(16): 6241-8.
- [18] Simons DJ, Land PW. Neonatal whisker trimming produces greater effects in nondeprived than deprived thalamic barreloids. *J Neurophysiol* 1994; 72(3): 1434-7.

- [19] Kyriazi HT, Carvell GE, Brumberg JC, Simons DJ. Quantitative effects of GABA and bicuculline methiodide on receptive field properties of neurons in real and simulated whisker barrels. *J Neurophysiol* 1996; 75(2): 547-60.
- [20] Sato H, Fox K, Daw NW. Effect of electrical stimulation of locus coeruleus on the activity of neurons in the cat visual cortex. *J Neurophysiol* 1989; 62(4): 946-58.
- [21] Lecas JC. Locus coeruleus activation shortens synaptic drive while decreasing spike latency and jitter in sensorimotor cortex. Implications for neuronal integration. *Eur J Neurosci* 2004; 19(9): 2519-30.
- [22] Waterhouse BD, Mouradian R, Sessler FM, Lin RC. Differential modulatory effects of norepinephrine on synaptically driven responses of layer V barrel field cortical neurons. *Brain Res* 2000; 868(1): 39-47.
- [23] Waterhouse BD, Moises HC, Yeh HH, Woodward DJ. Norepinephrine enhancement of inhibitory synaptic mechanisms in cerebellum and cerebral cortex: mediation by beta adrenergic receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 1982; 221(2): 495-506.
- [24] Kyriazi HT, Carvell GE, Brumberg JC, Simons DJ. Effects of baclofen and phaclofen on receptive field properties of rat whisker barrel neurons. *Brain Res* 1996; 712(2): 325-8.
- [25] Li CX, Callaway JC, Waters RS. Removal of GABAergic inhibition alters subthreshold input in neurons in forepaw barrel subfield (FBS) in rat first somatosensory cortex (SI) after digit stimulation. *Exp Brain Res* 2002; 145(4): 411-28.